



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2006117898/04, 24.05.2006

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
24.05.2006

(45) Опубликовано: 10.12.2008 Бюл. № 34

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: RU 2058307 C1, 20.04.1996. SU 1473303  
A, 15.06.1986. RU 2130459 C1, 20.05.1999. SU  
1066999 A, 15.01.1984. Русинов В.Л. и др.  
Химико-фармацевтический журнал, №1 с.39,  
1990 г.Адрес для переписки:  
620002, г.Екатеринбург, К-2, ул. Мира, 19,  
УГТУ-УПИ, отдел интеллектуальной  
собственности, Т.В. Маркс

(72) Автор(ы):

Чупахин Олег Николаевич (RU),  
Русинов Владимир Леонидович (RU),  
Уломский Евгений Нарциссович (RU),  
Деев Сергей Леонидович (RU),  
Русинова Лариса Ивановна (RU),  
Шестакова Татьяна Сергеевна (RU),  
Киселев Олег Иванович (RU),  
Деева Элла Германовна (RU)

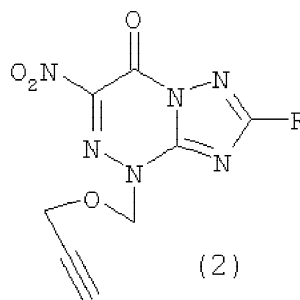
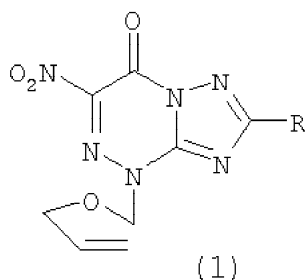
(73) Патентообладатель(и):

Государственное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
Уральский государственный технический  
университет-УПИ (RU)

(54) 2-R-4-(АЛЛИЛОКСИМЕТИЛ)-6-НИТРО-1,2,4-ТРИАЗОЛО[5,1-С]-1,2,4-ТРИАЗИН-7(4Н)-ОНЫ И  
2-R-4-(ПРОПАРГИЛОКСИМЕТИЛ)-6-НИТРО-1,2,4-ТРИАЗОЛО[5,1-С]-1,2,4-ТРИАЗИН-7(4Н)-ОНЫ,  
ОБЛАДАЮЩИЕ ПРОТИВОВИРУСНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

(57) Реферат:

2-R-4-(аллилоксиметил)-6-нитро-1,2,4-триазоло  
[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-оны общей формулы (1)  
и 2-R-4-(пропаргилоксиметил)-6-нитро-1,2,4-  
триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-оны общей  
формулы (2)

R: H, CH<sub>3</sub>, SCH<sub>3</sub>

обладающие противовирусным действием,  
которые могут найти применение в медицине. 3  
табл., 2 ил.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2006117898/04**, **24.05.2006**(24) Effective date for property rights: **24.05.2006**(45) Date of publication: **10.12.2008 Bull. 34**

Mail address:

**620002, g.Ekaterinburg, K-2, ul. Mira, 19,  
UGTU-UPI, otdel intellektual'noj  
sobstvennosti, T.V. Marks**

(72) Inventor(s):

**Chupakhin Oleg Nikolaevich (RU),  
Rusinov Vladimir Leonidovich (RU),  
Ulomskij Evgenij Nartsissovich (RU),  
Deev Sergej Leonidovich (RU),  
Rusinova Larisa Ivanovna (RU),  
Shestakova Tat'jana Sergeevna (RU),  
Kiselev Oleg Ivanovich (RU),  
Deeva Ehlla Germanovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

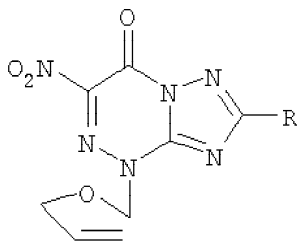
**Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie  
vysshego professional'nogo obrazovanija  
Ural'skij gosudarstvennyj tekhnicheskij  
universitet-UPI (RU)**

(54) **2-R-4-(ALLYLOXYMETHYL)-6-NITRO-1,2,4-TRIASOLO[5,1-C]-1,2,4-TRIAZIN-7(4H)-ONS AND 2-R-4-(PROPARGYLOXYMETHYL)-6-NITRO-1,2,4-TRIASOLO[5,1-C]-1,2,4-TRIAZIN-7(4H)-ONS, POSSESSING ANTI-VIRAL ACTIVITY**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

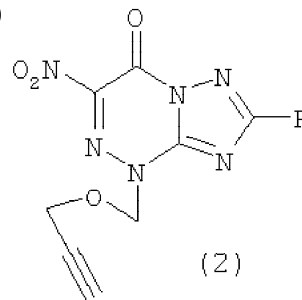
SUBSTANCE: 2-R-4-(allyloxymethyl)-6-nitro-1,2,4-triazolo [5,1-c]-1,2,4-triazin-7(4H)-ons of general formula (1)



(1)

and 2-R-4-(propargyloxymethyl)-6-nitro-1,2,4-

triasolo[5,1-c]-1,2,4-triazin-7(4H)-ons of general formula (2)



(2)

EFFECT: anti-viral activity of compound.

1 cl, 3 tbl, 5 ex, 2 dwg

## 1. Область техники, к которой относится изобретение

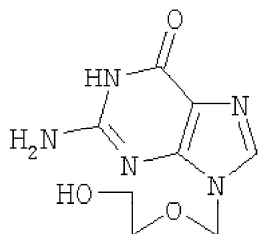
Изобретение относится к области биологически активных соединений и касается разработки новых производных 1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-онов, обладающих противовирусным действием, предназначенных для лечения и профилактики

## 2. Уровень техники

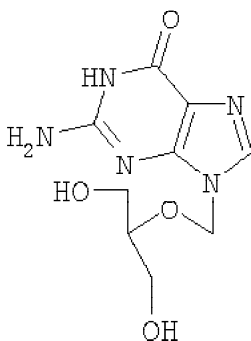
Актуальность проблемы противовирусной терапии, в особенности в условиях быстрой мутации вирусов, выявления новых возбудителей опасных и медленных вирусных инфекций вызывает постоянную потребность в новых средствах, которые бы обладали

высокой активностью, пролонгированным действием и низкой токсичностью. Одним из приемов создания эффективных противовирусных средств является создание ациклических нуклеозидов - структурных аналогов природных нуклеозидов, содержащих ациклические структуры в качестве фрагмента, моделирующего рибофуранозидный цикл. Так, описано противовирусное действие зовиракса, ганцикловира, фамцикловира ациклических структурных аналогов природного нуклеозида гуанозина, используемых для

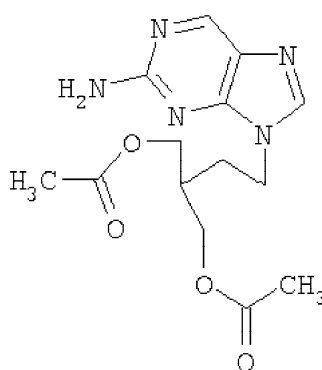
лечения заболеваний, вызванных вирусами герпеса, цитомегаловирусами, аденовирусами и проч. (Регистр лекарственных средств России. Энциклопедия лекарств. Под ред. Г.Л.Вышковского. Вып.11. М.: РЛС: 2004, 1504 с.; Von A.Kleemann, J. Engel. Pharmazeutische Wirkstoffe. Synthesen, Patente, Anwendungen. // New York, Stuttgart - Georg Thieme, Verlag, 1982. 1040 S.; P.C. Вартанян. Синтез основных лекарственных средств. / М.: Медицинское информационное агентство, 2004. - 845 с.)



зовиракс



ГАНЦИКЛОВИР



ФАМЦИКЛОВИР

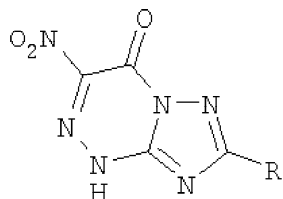
Среди ациклических нуклеозидов, проявивших противовирусное действие, выявлены соединения, содержащие в ациклическом фрагменте концевую кратную связь (М.С.Новиков, А.А.Озеров, А.К.Брель, Е.И.Бореко и др. Синтез и противовирусная активность 1-[2-(аллилокси)этоксиметил]- и 1-[1,3-ди(аллилокси)-2-пропоксиметил] пиримидинов. / Химико-фармацевтический журнал, 1993, №4, с.26-28; Озеров А.А., Брель А.К., Озеров Т.П., Боренко Е.И. и др. / 1-Аллилокиметилурацил: усовершенствованный синтез и активность в отношении ациклови́ррезистентного штамма вируса герписа // Хим. фарм. жур., 1993, №1, с.42-43; Озеров А.А., Брель А.К. Новые ацетиленовые ациклонуклеозиды. Синтез 1(-пропаргилоксиметил)производных урацила // ХГС, 1993, №6, с.797-799; Lee K.-H., Wu Y.-S., Hall I.H., Antitumor Agents. 25. Synthesis and Antitumor Activity of Uracil and Thymine  $\alpha$ -Methylene- $\gamma$ -lactones and Related Derivatives // J. Med. Chem., 1977, Vol.20, №7, p.911-914). К недостаткам противовирусных ациклических нуклеозидов относятся низкая метаболическая стабильность, кратковременный клиренс, отсутствие эффекта на клетках с цитопатическими последствиями вирусной инфекции; как следствие - необходимость приема препаратов в высоких дозировках, побочные действия на гемопоэз и, в частности, на костный мозг, относительно быстрая выработка резистентности при длительном и частом приеме в связи с появлением мутаций в генах тимидинкиназ (Вирусология. Т.2. Перевод под ред. Н.В.Каверина, Л.Л.Киселева / М.: Мир. 1989, 494 с.). К недостаткам аномальных

нуклеозидов, применяемых в терапевтической практике, следует добавить также дороговизну препаратов, обусловленную как дороговизной сырья, так и сложностью технологической схемы производства.

Современными лекарственными препаратами, обладающими высокой противовирусной активностью, являются ремантадин, адапромин, тромантадин (Регистр лекарственных средств России. Энциклопедия лекарств. Под ред. Г.Л.Вышковского. Вып.11. М.: РЛС: 2004, 1504 с.). Ремантадин и адапромин широко используются в медицинской практике в качестве профилактического средства во время эпидемий гриппа, а также на ранних стадиях лечения гриппа типа А. Кроме того, адапромин используется для лечения гриппа типа В. Для тромантадина характерен другой спектр действия: он активен в отношении HSV-1 и применяется для лечения герпеса (Ершов Ф.И., Чижов Н.П., Тазулахова Э.Б. Противовирусные средства (справочник) / Санкт-Петербург.1993, 104 с.). К недостаткам этих препаратов относится их способность подавлять репродукцию вирусов лишь на ранней стадии заражения, что резко ограничивает практическую применимость этих препаратов.

Таким образом, поиск новых противовирусных средств в отношении вирусов гриппа типа А, В, респираторно-синцитиального вируса и вируса простого герпеса является актуальной задачей.

С другой стороны, имеются данные о противовирусном действии 6-нитро-1,2,4-триазоло [5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-онов в купе с низкой токсичностью соединений (синтез и противовирусная активность 6-нитро-7-оксо-4,7-дигидроазоло [5,1-с][1,2,4]триазинов. В.Л.Русинов, Е.Н.Уломский, О.Н.Чупахин, М.М.Зубаиров, А.Б.Капустин, Н.И.Митин и др. / Химико-фармацевтический журнал. №9, 1990, с.41-44).

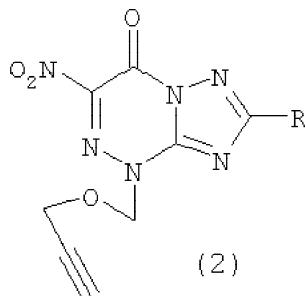
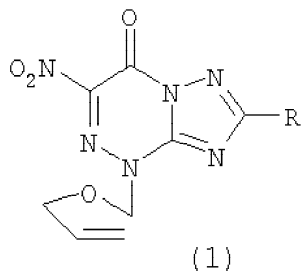


Известно также противовирусное действие 4-алкилтио-5,7-дигидро-7-оксо-1,2,4-триазоло[4,3-d]-1,2,4-триазинов (Cristescu C. Derivati de 5-oxo-5,6-dihidro-s-triazolo(4,3-d)-(as-triazinã si procedeu pentru prepararea lor. Пат CPP кл. 12 (C07d 55/10), №56269, 13.03.1974).

В качестве прототипа наиболее использован противовирусный препарат ремантадин, активный в отношении широкого спектра вирусов гриппа.

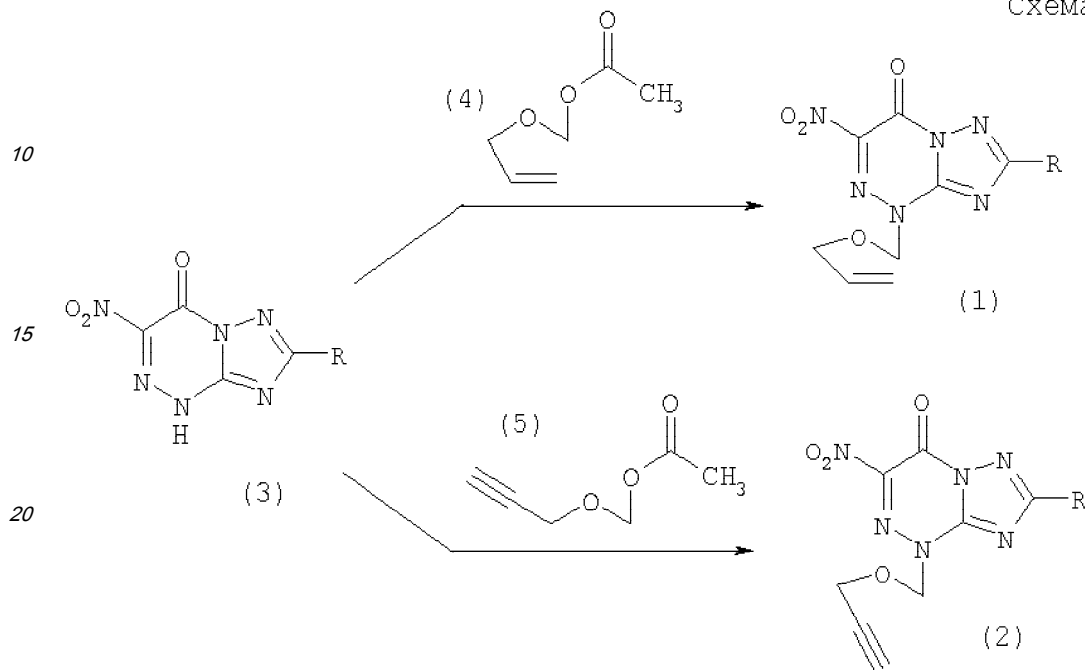
### 3. Раскрытие изобретения

Техническим результатом предлагаемого изобретения является нахождение новых химических соединений производных триазоло-1,2,4-триазина, обладающих противовирусным действием, в частности в отношении вируса гриппа, респираторно-синцитиальной инфекции, герпеса и вируса гриппа птиц. Указанный технический результат достигается тем, что согласно изобретению предложены новые соединения - 4-(аллилоксиметил)-2-R-6-нитро-1,2,4-триазоло [5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-оны общей формулы (1) и 4-(пропаргилоксиметил)-2-R-6-нитро-1,2,4-триазоло [5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-оны общей формулы (2), содержащие в качестве фрагмента R атом Н, либо метильную группу; либо метилтиогруппу.



4-(Аллилоксиметил)-2-R-6-нитро-1,2,4-триазоло [5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-оны общей формулы (1) и 4-(пропаргилоксиметил)-2-R-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-оны общей формулы (2) получены из 2-R-6-нитро-1,2,4-триазоло [5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-онов (3) алкилированием аллилоксиметилацетатом (4) или пропаргилоксиметилацетатом (5) в соответствии со схемой 1.

Схема 1



1.1: R=H, 1.2: R=CH<sub>3</sub>, 1.3: R=SCH<sub>3</sub>; 2.1: R=H, 2.2: R=CH<sub>3</sub>, 2.3: R=SCH<sub>3</sub>.

Структура заявляемых соединений (1.1÷1.3 и 2.1÷2.3) установлена на основании данных элементного анализа ИК и ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии.

В разделе 4 приведены примеры синтеза и физико-химические характеристики заявляемых соединений.

#### 4. Примеры синтеза заявляемых соединений

##### Пример 1.

4-аллилоксиметил-6-нитро-1,2,4-триазоло [5,1-с] -1,2,4-триазин-7-он (1.1).

Суспензию 0,182 г (0,001 моль) 6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она в 1,35 мл (0,001 моль) аллилоксиметилацетата (4) кипятили в круглодонной колбе с обратным водяным холодильником 5 мин. После охлаждения образовавшийся осадок перекристаллизовали из этанола.

Выход, %; T<sub>пл</sub>, °C. Найдено, %, C, H, N. Брутто-формула. Вычислено, %, C, H, N; <sup>1</sup>H ЯМР спектр (DMSO-d<sub>6</sub>), δ, м.д.

58; 45; 38.14, 3.17, 33.30. C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>. 38.10, 3.20, 33.32.

4,24 м. (2H, O-CH<sub>2</sub>), 5,33 м. (2H, C=CH<sub>2</sub>), 5,64 с. (2H, N-CH<sub>2</sub>), 5,82 м. (1H, C=CH), 8,34 с. (1H, H(2))

4-Аллилоксиметил-2-метил-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-он(1.2)

Суспензию 0,196 г (0,001 моль) 2-метил-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она в 1,35 мл (0,001 моль) аллилоксиметилацетата (4) кипятили в круглодонной колбе с обратным водяным холодильником 5 мин. После охлаждения образовавшийся осадок перекристаллизовали из этанола.

Выход, %; T<sub>пл</sub>, °C. Найдено, %, C, H, N. Брутто-формула. Вычислено, %, C, H, N; <sup>1</sup>H ЯМР спектр (DMSO-d<sub>6</sub>), δ, м.д.

63; 36; 40.64, 3.81, 31.54. C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>. 40.61, 3.79, 31.57.

2,51 с. (3H, C-CH<sub>3</sub>), 4,20 м. (2H, O-CH<sub>2</sub>), 5,30 м. (2H, C=CH<sub>2</sub>), 5,67 с. (2H, N-CH<sub>2</sub>), 5,87 м.(1H, C=CH)

4-Аллилоксиметил-2-метилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-он(1.3)

Суспензию 0,228 г (0,001 моль) 2-метилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она в 1,35 мл (0,001 моль) аллилоксиметилацетата (4) кипятили в круглодонной колбе с обратным водяным холодильником 5 мин. После охлаждения образовавшийся осадок перекристаллизовали из этанола.

5 Выход, %;  $T_{пл}$ , °C. Найдено, %, С, Н, N. Брутто-формула. Вычислено, %, С, Н, N;  $^1H$  ЯМР спектр (DMSO-d<sub>6</sub>),  $\delta$ , м.д.

62; 48; 36,27, 3,40, 28,16.  $C_9H_{10}N_6O_4S$ . 36,24, 3,38, 28,17.

2,68 с. (3H, C-CH<sub>3</sub>), 4,22 м. (2H, O-CH<sub>2</sub>), 5,25 м. (2H, C=CH<sub>2</sub>), 5,61 с. (2H, N-CH<sub>2</sub>), 5,88 м. (1H, C-CH).

10 Пример 2.

4-Пропаргилоксиметил-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-он(2.1)

Суспензию 0,182 г (0,001 моль) 6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она в 1,30 мл (0,001 моль) пропаргилоксиметилацетата кипятили в круглодонной колбе с обратным водяным холодильником 5 мин. После охлаждения образовавшийся осадок перекристаллизовали из этанола.

15 Выход, %;  $T_{пл}$ , °C. Найдено, %, С, Н, N. Брутто-формула. Вычислено, %, С, Н, N;  $^1H$  ЯМР спектр,  $\delta$ , м.д.

56; 59; 38,80, 2,61, 33,63.  $C_8H_6N_6O_4$ . 38,41, 2,42, 33,59.

3,25 т. (1H, C $\equiv$ CH), 4,35 (2H, д., O-CH<sub>2</sub>), 5,73 (2H, с., N-CH<sub>2</sub>), 8,45 (1H, с., H(2))

20 4-Пропаргилоксиметил-2-метил-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-он 2.2

Суспензию 0,195 г (0,001 моль) 2-метил-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она в 1,30 мл (0,001 моль) пропаргилоксиметилацетата кипятили в круглодонной колбе с обратным водяным холодильником 5 мин. После охлаждения образовавшийся осадок перекристаллизовали из этанола.

25 Выход, %;  $T_{пл}$ , °C. Найдено, %, С, Н, N. Брутто-формула. Вычислено, %, С, Н, N;  $^1H$  ЯМР спектр,  $\delta$ , м.д.

67; 65; 40,73, 3,21, 31,85.  $C_9H_8N_6O_4$ . 40,92, 3,05, 31,81.

2,50 с. (3H, C-CH<sub>3</sub>), 3,25 т. (1H, C $\equiv$ CH), 4,35 д. (2H, O-CH<sub>2</sub>), 5,75 с. (2H, N-CH<sub>2</sub>)

30 4-Пропаргилоксиметил-2-метилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-он (2.3)

Суспензию 0,228 г (0,001 моль) 2-метил-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она в 1,30 мл (0,001 моль) пропаргилоксиметилацетата кипятили в круглодонной колбе с обратным водяным холодильником 5 мин. После охлаждения образовавшийся осадок перекристаллизовали из этанола.

35 Выход, %;  $T_{пл}$ , °C. Найдено, %, С, Н, N. Брутто-формула. Вычислено, %, С, Н, N;  $^1H$  ЯМР спектр,  $\delta$ , м.д.

58; 72 36,51 2,71 28,36.  $C_9H_8N_6O_4S$ . 36,49 2,72 28,37.

2,54 с. (3H, C-CH<sub>3</sub>), 3,22 т. (1H, C $\equiv$ CH), 4,34 д. (2H, O-CH<sub>2</sub>), 5,77 с. (2H, N-CH<sub>2</sub>)

40 Присутствие в 4-(аллилоксиметил)-2-*R*-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4H)-онов (1.1-1.3) терминальных группировок доказано данными спектров ЯМР  $^1H$  на основании хим. сдвигов и мультиплетности резонансных сигналов. Так в спектрах  $^1H$  ЯМР 1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазинов (1.1-1.3) аллильный фрагмент проявляется в виде характерной ABX системы.

45 Так, в спектре соединения 1.3 протоны терминальной группы -C=CH<sub>2</sub> представлены двухпротонным мультиплетом с хим. сдвигом в области 5,20-5,30 м. д.. В то же время протон -CH=C- проявляется в виде мультиплета в области 5,80-5,90 м. д. Фиг.1 представляет собой спектр ЯМР  $^1H$  2-метилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло [5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4H)-она (1.3).

50 В ИК спектрах заявляемых соединений (1.1-1.3) присутствуют полосы поглощения в области 1730-1760 см<sup>-1</sup>, соответствующие валентным колебаниям карбонильной группы и полосы поглощения в области 1330-1560 и 1540-1570 см<sup>-1</sup>, соответствующие валентным колебаниям нитрогруппы.

Анализ спектра ЯМР  $^1\text{H}$  4-(пропаргилоксиметил)-2-*R*-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-7(4*H*)-онов (2.1-2.3) позволяет однозначно установить строение полученных соединений. Так, в спектре соединения (6.1, *R*=H) сигнал с хим. сдвигом 3,18 м. д., представленный в виде триплета ( $^3J=2,4$  Гц), принадлежит протону ацетиленовой группы.

Фиг.2 представляет собой спектр ЯМР  $^1\text{H}$  6-нитро-4-пропаргилоксиметил-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазина(2.1)

Кроме того, доказательством присутствия ацетиленового фрагмента в структуре 2-*R*-6-нитро-4-пропаргилоксиметил-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазинов (2.1-2.3) является присутствие в ИК спектрах этих соединений полосы в области 2110-2130  $\text{см}^{-1}$ , соответствующей валентным колебаниям тройной связи.

#### 5. Определение биологического действия заявляемых соединений

Пример 1. Определение противовирусной активности соединений в отношении вирусов гриппа

В работе использовали вирусы гриппа типа А (H1N1, H3N2, H5N1 и H0N1 (ремантадинрезистентные) штаммы) и тип В.

Определение противовирусной активности соединений в отношении вируса гриппа проводили на модели ХАО на 71-лучных полистероловых панелях. Соединения в исследуемых концентрациях растворяли в среде для ХАО и вносили в лунки панелей с фрагментами ХАО, куда затем добавляли вирус в разведениях и инкубировали при температуре 33-34°C в течение 48 (для гриппа типа А) и 72 (для гриппа типа В) часов. Ингибирующее действие на репродукцию вирусов исследуемых соединений оценивали по реакции ГА при добавлении 1% куриных эритроцитов к культурной жидкости.

Эффективность соединения оценивали по снижению инфекционной активности вируса в опыте по сравнению с контролем - индекс нейтрализации ( $\lg \text{ИД}_{50}$ ). При значении ИН до 1,0  $\lg \text{ИД}_{50}$  препарат считали неактивным, при ИН от 1,0 и 2,0  $\lg \text{ИД}_{50}$  - слабоактивный, при ИН выше 2,0  $\lg \text{ИД}_{50}$  - активным.

Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Мэнча. Контролями при постановке опыта явились - контроль ХАО, контроль вируса, контроль препарата, противовирусный препарат - ремантадин.

В таблице 1 приведены данные по противовирусной активности заявляемых соединений (1) и (2) в отношении вирусов гриппа типа А и В. Заявляемые соединения (1.1) и (1.3) обладают сопоставимой с ремантадином активностью по отношению к гриппу А и превышают действие ремантадина в отношении вируса гриппа типа В. Заявляемое соединение (1.2) обладает противовирусным действием в отношении вирусов гриппа типа А, сопоставимое с действием ремантадина и превышает действие ремантадина в отношении вируса гриппа типа В. Что касается соединений 2.1-2.2 (особенно это относится к соединению 2.2), то при дальнейшем изучении они показали активность в отношении ремантадинрезистентных штаммов (H0N1) и значительно снизили репродукцию вируса гриппа В. Ремантадин неактивен в отношении вируса гриппа типа В.

Из данных, приведенных в таблице 2, видно, что соединения 1.1-1.3 показали противовирусное действие, превышающее действие ремантадина, в отношении вируса гриппа типа В, а также вирусов гриппа типа А (штаммы А/H0N1 (Монг) и А/H0N1 (PR)).

Пример 2. Определение противовирусной активности соединений в отношении респираторно-синцитиального вируса

В работе использовали респираторно-синцитиальный вирус (штамм Лонг).

Постановка основного опыта по испытанию ингибирующего действия препарата в отношении РС вирусов включала в себя следующие этапы:

1. Внесение в пробирки с культурой клеток исследуемых концентраций препаратов.
2. Контакт препарата с клетками культуры ткани в течение 1 часа при комнатной температуре.
3. По окончании контакта внесение в пробирки препарата с вирусом.

Противовирусная активность соединений определяли по индексу нейтрализации, оценка

которого аналогична оценке показателей при изучении противовирусной активности в отношении вирусов гриппа.

Контролями при постановке опыта явились контроль культуры клеток, контроль препарата, контроль вируса.

- 5 В таблице 3 приведены данные по противовирусной активности заявляемых соединений (2) в отношении респираторно-синтициального вируса. Ремантадин неактивен в отношении респираторно-синтициального вируса.

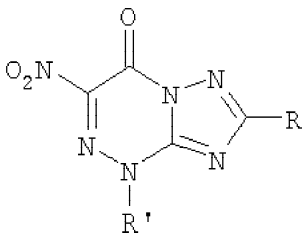
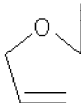
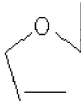
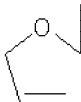
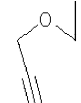
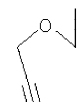
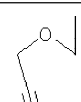
Пример 3. Определение противовирусной активности соединений в отношении вируса простого герпеса

- 10 В работе использовали вирус простого герпеса, штамм ЕС.

Изучение противовирусной активности соединений в отношении вируса простого герпеса проводили на 96-луночных полистероловых микропланшетах на клеточных линиях Vero и Herp-2. Результаты оценивали через 48 часов культивирования зараженных клеток по степени цитопатического действия, вызываемого вирусом:

- 15 «+++» - округление всех клеток, «+» - изменение морфологии клеток, «+/-» - зернистость цитоплазмы, локальные округления клеток, «-» - клетки не изменены. Контролями при постановке опыта являлись - контроль вируса, контроль клеток.

В таблице 3 приведены данные по противовирусной активности заявляемых соединений (2) в отношении вируса простого герпеса. Ремантадин неактивен в отношении вируса простого герпеса.

Таблица 1				
Противогриппозная активность заявляемых соединений				
				
№ п/п	Соединение		Активность в отношении вирусов гриппа	
	R	R'	Тип А	Тип В
1.1	H		активен	активен
1.2	CH <sub>3</sub>		активен	слабо активен
1.3	SCH <sub>3</sub>		активен	активен
2.1	H		активен	активен
2.2	CH <sub>3</sub>		активен	активен
2.3	SCH <sub>3</sub>		активен	активен

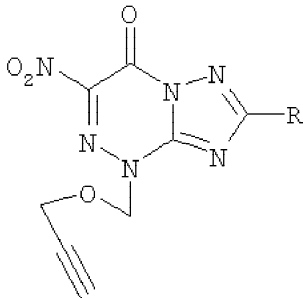


ремантадин	активен	неактивен
------------	---------	-----------

Таблица 2						
Противогриппозная активность заявляемых соединений (1)						
№ Соединения	Концентрация препарата, мкг/мл	Снижение инфекционного титра штаммов вируса, lg (ЭИД <sub>50</sub> )				
		A/H3N2	B	A/H5N1	A/H0N1 (Монг)	A/H0N1 (PR)
1.1	100 (200)	2,5 (2,5)	4,0 (4,0)	3,5 (3,5)	4,0 (4,0)	4,5 (4,5)
1.2	100 (200)	0,5 (2,0)	1,0 (2,5)	1,5 (3,0)	2,5 (3,0)	2,5 (4,0)
1.3	100 (200)	2,0 (2,5)	2,5 (3,0)	2,5 (3,0)	4,0 (4,0)	2,5 (4,0)
Ремантадин	100 (200)	2,5 (2,5)	0,0 (0,5)	3,0 (3,0)	0,0 (1,5)	1,0 (1,5)
Исходный титр вируса		3,5	4,5	4,0	5,0	5,5

Таблица 3

Активность заявляемых соединений (2) в отношении респираторно-синтициального вируса и вируса простого герпеса

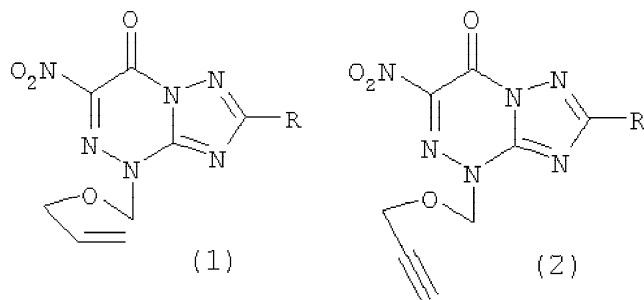


№ п/п	Соединение	Респираторно-синтициальный вирус		Вирус простого герпеса
	R	Индекс защиты, %	Снижение титра, lg	
2.1	H	56	≥1,7	++
2.2	CH <sub>3</sub>	34	≥1,1	++
2.3	SCH <sub>3</sub>	22	≥1,0	+++

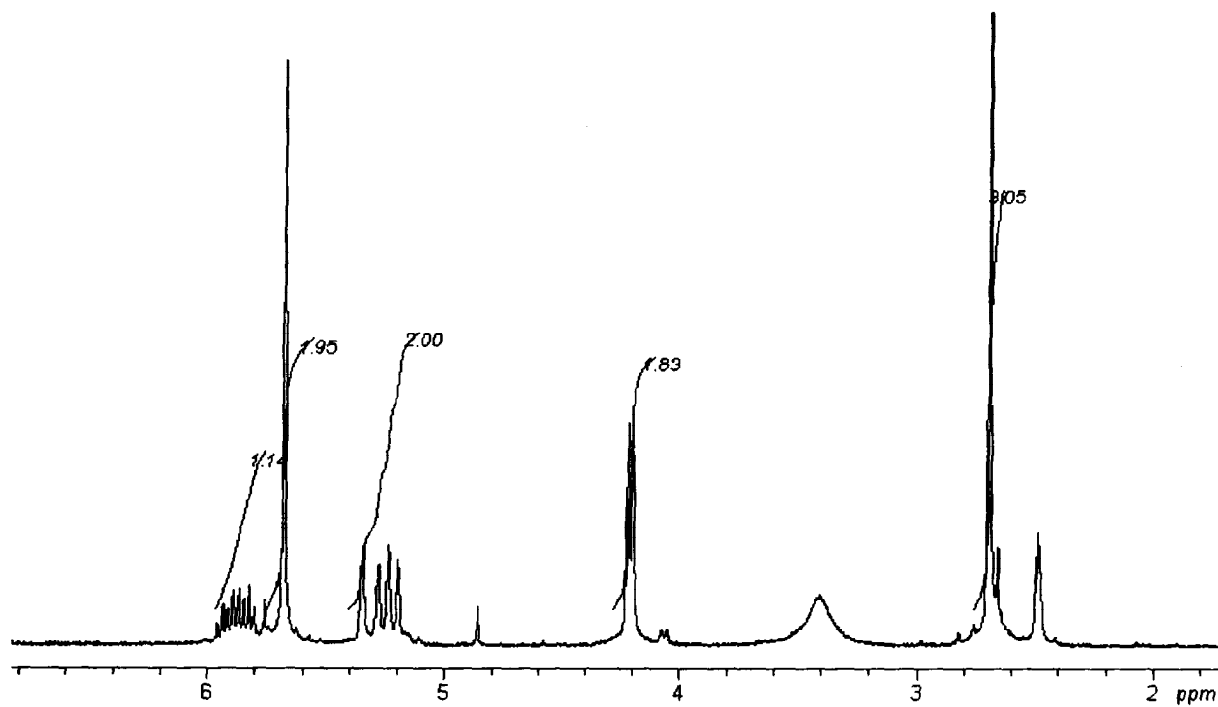
# Формула изобретения

2-R-4-(аллилоксиметил)-6-нитро-1,2,4-триазоло [5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-оны общей формулы (1) и 2-R-4-(пропаргилоксиметил)-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-оны общей формулы (2)

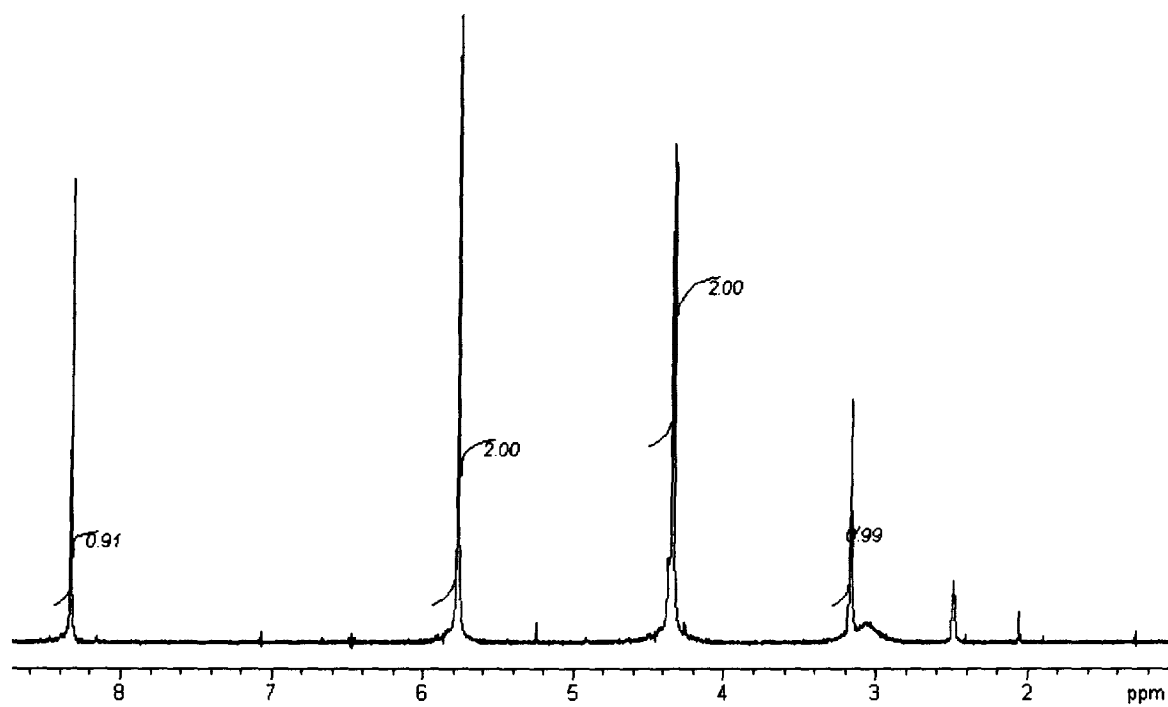
где R: H, CH<sub>3</sub>, SCH<sub>3</sub>,



обладающие противовирусным действием.



Фиг.1



Фиг.2





ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

**(12) ИЗВЕЩЕНИЯ К ПАТЕНТУ НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

---

**ММ4А - Досрочное прекращение действия патента СССР или патента Российской Федерации на изобретение из-за неуплаты в установленный срок пошлины за поддержание патента в силе**

(21) Регистрационный номер заявки: **2006117898**

Дата прекращения действия патента: **28.10.2008**

Извещение опубликовано: **20.02.2010**      БИ: **05/2010**

---

RU 2 340 614 C2

RU 2 340 614 C2